

4/9/1

DIALOG(R) File 351:Derwent WPI

(c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

001999981

WPI Acc No: 1978-12996A/197807

Ergosterol prodn. from yeast - by aerobically culturing yeast on medium

contg. pantothenic acid (salt) and (L)-cysteine

Patent Assignee: MITSUBISHI OIL CO (MISQ)

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 50142787	A	19751117				197807 B

Priority Applications (No Type Date): JP 7447007 A 19740424

Abstract (Basic): JP 50142787 A

Ergosterol (I) was produced by yeast aerobically cultured on a medium contg. panthothenic acid or its alkali(ne earth) metal salt and

L-cysteine (II).

In an example, *Saccharomyces cerevisiae* IAM 4519 was aerobically

cultured on 17 l. medium (pH 7.0) contg. KH₂PO₄ 0.15, Na₂HPO₄ 0.15, MgSO₄ 0.1, yeast extract 1.0, corn steep liquor 0.2, and EtOH 2.0% at

30 degrees for 4 days. The cells were suspended in 10% KOH and sapond.

at 120 degrees for 30 min. (I) was extd. from the filter residue with

BuOH refluxing at 90-100 degrees for 1 hr. The extract was added with

boiling water and stood cold. The resulting crystal (I) was recrystallised from EtOH. Max. prodn. of (I) was 1.6mg/ml. while (I)

was produced at 0.8mg/ml. cultured without addn. of Ca panthothenate and (II).

Title Terms: ERGOSTEROL; PRODUCE; YEAST; AEROBIC; CULTURE; YEAST; MEDIUM;

CONTAIN; PANTOTHENIC; ACID; SALT; CYSTEINE

Derwent Class: B01; D16

International Patent Class (Additional): C12D-000/00

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): B01-D02; D05-C04

Chemical Fragment Codes (M5):

01 S005 S007 S303 S317 S503 S032 S131 S133 S134 S142 S143 U560 U564
N030 M902

?



(2,000円) 特 許 願

昭和49年4月25日

特許庁長官 齋藤英雄 殿

1. 発明の名称

エルゴステロールの製造方法

2. 発明者

住 所 茨城県稲敷郡阿見町大字 若 栗 1315番地

三菱油化株式会社中央研究所内

氏 名 栗 田 淑 郎
(ほか1名)

3. 特許出願人

東京都千代田区丸の内二丁目5番2号

三菱油化株式会社

代 表 者 黒 川 久

明 細 書

1. 発明の名称

エルゴステロールの製造方法

2. 特許請求の範囲

酵母を培養するに際して培地中にパントテン酸又は其のアルカリ金属塩或はアルカリ土類金属塩とL-システインとを共存せしめ、好気的に培養を行ない、菌体中に著量のエルゴステロールを蓄積させることを特徴とするエルゴステロールの製造方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、酵母を培養するに際して、その菌体内エルゴステロール含量を増大させるため、培地中にパントテン酸又は其のアルカリ金属塩或はアルカリ土類金属塩とL-システインとを添加して培養し、得られる菌体中に著量のエルゴステロールを蓄積させる方法に関する発明である。

エルゴステロールはビタミンD、ステロイドホルモン等の製造における前駆体として非常に

① 日本国特許庁

公開特許公報

⑪特開昭 50-142787

⑬公開日 昭50.(1975) 11. 17

⑫特願昭 49-47007

⑭出願日 昭49.(1974) 4. 25

審査請求 未請求 (全3頁)

庁内整理番号

7110 49

⑮日本分類

362D441

⑯Int. Cl²

C12D 13/08

重要な化合物であり、今後その需要の増大が予想され、製造法についてより経済的且つ効率的な新規製造法の開発が強く望まれていた。

エルゴステロールは従来から各種の酵母カビに広く分布していることが知られており、且つ酵母を好気的に培養しその菌体から抽出することにより製造されている。又最近炭化水素を炭素源として酵母を培養し菌体中に著量のエルゴステロールを蓄積する方法として、D-アラボアスכולビン酸(特開昭48-92585)やアセトン又は酢酸エチル(特開昭48-92586)を培地に添加する方法が発表されている。又APPLIED MICROBIOLOGY 2 371-379(1954)によればパントテン酸の存在により酵母中のエルゴステロールの量(乾燥菌体単位重量当り)が増加することが報ぜられている。

然しながらこれ等の技術はいずれも菌体中に蓄積されるエルゴステロールの濃度が不十分で経済的にみて必らずしも魅力あるものと言え難かつた。

本発明者等は、エルゴステロールを安価に製造する為には、酵母菌体中のエルゴステロールの量の増加が問題解決の鍵であることに注目し、鋭意研究し、遂に本発明に到達した。即ち酵母の培地に、パントテン酸又は其のアルカリ金属塩或はアルカリ土類金属塩と、L-システインとを共存させ、好気性の培養を行うことにより、従来の技術では到達し得なかつた量のエルゴステロールを酵母の菌体中に蓄積することに成功したもので、誠に画期的な発明と言うことが出来る。

本発明につき更に説明すると、培地に添加すべきパントテン酸類とL-システインの量はそれぞれ培地1mlに対し一般には0.1~2.0mgであり特に0.5~1.0mgが最適である。

本発明に使用し得る酵母はどのようなものでもよく、具体的にはサツカロミセス・セレビシエ・ハンセン IAM 4519, サツカロミセス・カールスベルゲンシス・ハンセン IAM 4778 (日本微生物保存機関連盟 JFCC型録 1966年度版166

次に実施例をもつて、本発明の内容を詳細に述べるが、これにより本発明は何ら制限を受けるものではない。

なお以下の実施例におけるエルゴステロールの定量には次の比色法を採用した。

エルゴステロールの粗結晶をクロ、フォルムに溶解し、この液2ccに対して、無水酢酸19容に対し濃硫酸1容の混合液3ccを加えて発色し、其の625mμの吸光度を測定し、予め純結晶エルゴステロールを使用して作成した、キャリブレーション曲線にてらしてエルゴステロールを定量する。

実施例 1

サツカロミセス・セレビシエ・ハンセン IAM 4519を リン酸/カリウム 0.15%, リン酸2ナトリウム 0.15%, 硫酸マグネシウム 0.1%, 酵母エキス 1.0%, コーンステイブリカー 0.2%, エタノール 2.0% (pH7 に調整後殺菌) から成る培地に植菌し、30℃にて24時間振盪培養し、これを同じ組成の培地

頁、163頁(記載)があげられる。培地については、通常は無機塩、窒素源及び必要に応じて有機窒素源を含む、酵母の生育の可能な培地であれば、どのような培地でもよく、また炭素源についても同様にブドウ糖等の炭水化物、n-パラフィン等の炭化水素、エタノール等のアルコールなど使用する酵母が資化できればどのようなものでもよい。培養の条件も公知のエルゴステロール製造に行なわれている酵母の培養条件と何ら変わるものではない。

培養後得られた菌体から、エルゴステロールを単離するのは、公知の種々の方法によつて行なえばよく、特にその方法に制限はない。例えば培養後遠心分離により集めた菌体を、アルカリ性にて加水分解(ケン化)し、後n-ブタノール等の有機溶媒で抽出する。n-ブタノール抽出液に水を加え、低温放置することにより、粗エルゴステロールが得られ、さらにエタノール等により、再結晶を行なえば、純品のエルゴステロールを得ることができる。

17%を含む30%容ジャーフアーメンターに1%接種し、通気攪拌下4日間培養する。培養終了後、菌体を集め、10%苛性カリ水溶液に懸濁し、オートクレーブに120℃30分かけ、ケン化を行なう。セライト等のろ過助剤を加え吸引ろ過し残さより、エルゴステロールをn-ブタノールにて抽出(1時間90-100℃加熱還流)し、沸騰水を加えた後、低温に放置することにより、エルゴステロールを結晶せしめる。得られた粗結晶をエタノールにて再結晶することにより、純品のエルゴステロールが得られる。質量分析、赤外吸収スペクトル、薄層クロマトグラムの分析結果から、エルゴステロールであることが確認された。

パントテン酸塩、L-システインの培地への添加濃度を变化させた場合のエルゴステロール含量(乾燥菌体当り%)を示すと、次の表1の通りである。

表 1

	パントテン酸カルシウム (mg/ml)		
	0	0.5	1.0
0	0.8	0.9	1.1
L-システイン 0.5	1.4	1.6	1.3
(mg/ml) 1.0	1.2	1.2	1.2

実施例 2

サツカロミセス・カールスベルゲンシス・ハンセン IAM 4778 を実施例 1 に示した培地組成のうち、炭素源をエタノールからブドウ糖に代えた培地に植菌し、30℃で24時間振盪培養する。この培養液1.0mlを同じ組成の培地50mlを含む、500ml容坂口コルベンに無菌的に植菌し、30℃にて振盪培養を行なり。2日後に培養を終了し、菌体を集め、実施例 1 と同様に処理し、得られたエルゴステロールの量を定量する。

パントテン酸塩、L-システインの添加量の

○ エルゴステロール含量(乾燥菌体当り%)に与える効果を次の表2に示す。

表 2

	パントテン酸カルシウム (mg/ml)		
	0	0.5	1.0
0	1.4	1.4	1.4
L-システイン 0.5	1.4	1.5	1.7
(mg/ml) 1.0	1.7	2.0	2.0

特許出願人 三菱油化株式会社

代理人

弁理士 堀 正 雄

4 代理人

東京都中野区中央5丁目9番11号

(7353) 弁理士 堀 正 雄

5 添付書類の目録

(1) 明 細 書 / 通

(2) 委 任 状 / 通

6 前記以外の発明者

住所 茨城県 稲敷郡 阿見町 大字 若 栗 1315番地

三菱油化株式会社中央研究所内

氏 名 三 輪 直 人